TOYOBO
maxell



MBP-fusion Protein Purification Kit

MagExtractor®-*MBP*-

磁性ビーズを利用した、MBP融合タンパク質を簡便に精製するためのマニュアル用キットです。

MagExtractor®-*MBP*-は、マルトース結合タンパク質（Maltose Binding Protein ; MBP）がアミロースに結合することを利用した、MBP融合タンパク質のマニュアル用*精製キットです。MBP融合用ベクターを用いて大腸菌などで発現させた目的タンパク質を簡便に精製することができます。キットには磁性アミロースビーズ、精製バッファーが含まれています。

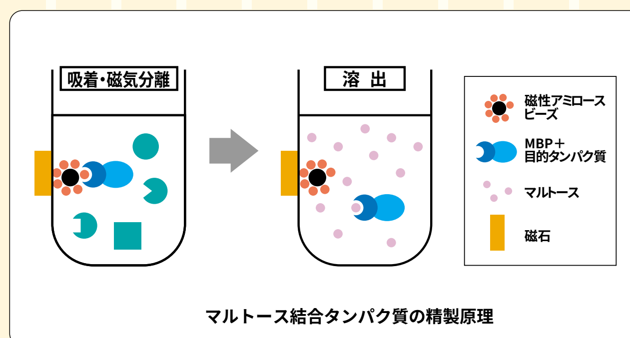
* 本製品は自動核酸抽出装置MFXシリーズには対応しておりません。磁性ビーズ分離用スタンドMag*ical Trapper*（Code No. MGS-101）または簡易遠心機をご使用ください。市販の磁性ビーズ分離用スタンドもご使用いただけます。

特徴 1 MBP融合タンパク質精製に至適化

- 本キットには、磁性アミロースビーズに至適化した組成の吸着液、洗浄液、溶出液が含まれています。
- マルトースを利用した穏やかな条件で溶出できます。

特徴 2 操作性向上

- 細胞破砕液に磁性ビーズを添加してMBP融合タンパク質を吸着させ、磁性ビーズ分離用スタンドにてビーズを分離します。
- 細胞破砕片を遠心分離することなく、そのまま使用できるため、簡便に精製できます。



マルトース結合タンパク質の精製原理

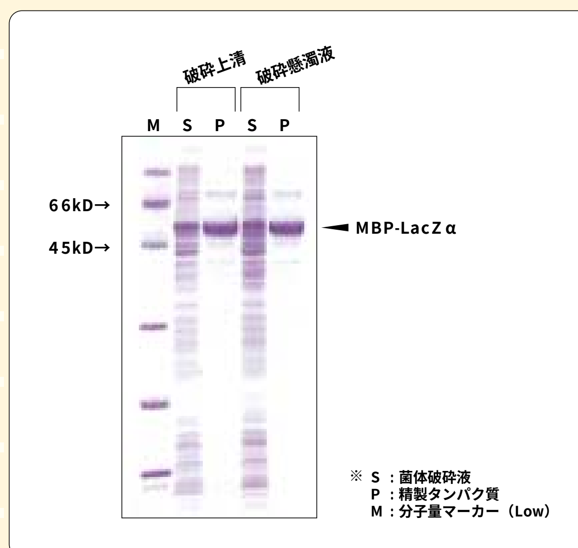
実施例 大腸菌で発現させたMBP融合*lacZα*ペプチドの精製

*lacZα*ペプチドのN末端にMBPを付加した融合タンパク質（MBP-LacZα）を発現させた大腸菌から目的タンパク質の精製を行いました。

MBP-LacZαの精製フロー（1.5mlチューブスケール）

菌体破砕液 （吸着液900μl中で超音波破砕）
↓
融合タンパク質の吸着 （磁性ビーズ100μl添加）
↓ ← *B/F（固液）分離*
不純物の除去 （洗浄液900μl添加）
↓ ← *B/F分離*
融合タンパク質の溶出 （溶出液50～100μl添加）
↓ ← *B/F分離*
精製タンパク質

MagExtractor® -*MBP*-を使用することにより、クルードな細胞破砕液でも破砕上清と同様に精製できます。



品名及び内容	包装	保存温度	Code No.	価格
MagExtractor® -*MBP*- ビーズ懸濁液 吸着液 洗浄液 溶出液 磁性ビーズ*	100回用	4℃	NPK-A01	\25,000

* 技術提携:日立マクセル株式会社

関連商品

品名及び内容	包装	保存温度	Code No.	価格
Mag*ical Trapper*	1個	室温	MGS-101	\38,000



Surface Plasmon Resonance Imaging System
MultiSPRinter™

複数物質の相互作用を同時に観察できる表面プラズモン共鳴解析システムです。

MultiSPRinter™ Surface Plasmon Resonance Imaging Systemは、96種類までの物質をチップ上にアレイ化することで、複数の相互作用を同時に解析することができるシステムです。相互作用の検出方法は表面プラズモン共鳴（SPR）法であるため、ラベルフリーかつリアルタイムに相互作用を解析できる特徴を有しています（Fig.1御参照）。専用の自動スポッターを用いることで、96穴プレートに用意したサンプル溶液から簡便にアレイを作製することが可能です（Fig.2～4御参照）。チップに固定化可能な物質として、核酸、ペプチド、抗体、蛋白などが挙げられます。

特徴 1
複数サンプル（96種類まで）を同時にリアルタイム相互作用解析可能（Fig.5御参照）。

特徴 2
ラベルフリーで相互作用が観察できるため、ラベル困難な物質の評価が可能。

特徴 3
専用ソフトにより複数のKineticsデータを評価可能。

特徴 4
簡便に生体分子を固定化できるチップを供給。

特徴 5
専用のスポッターを用いることで、96穴プレートに用意したサンプルから簡単にアレイ作製可能。

特徴 6
少ないサンプル量［スポット（固定側）10 µl、分析対象物質（液流側）200 µl］で解析可能。

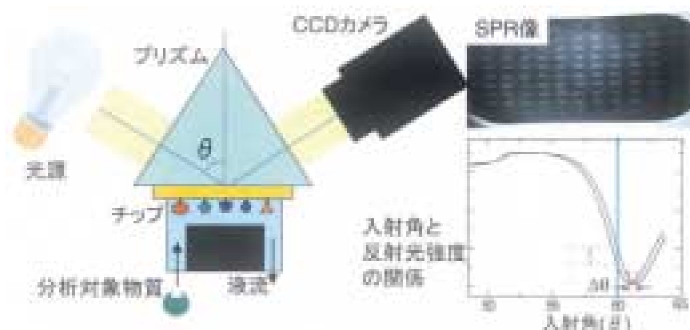


Fig.1 SPR イメージング法の概念図
平行光となった偏光光束がチップ全面に照射され、その反射光がCCDカメラでSPR像として撮影される。相互作用（チップ上に物質が結合あるいは解離すること）により、SPR角がシフトし、反射光強度が変化する。SPR像の調べたい部分の反射光強度の変化を解析することで、複数の物質の相互作用解析が可能となる。



Fig.2 MultiSPRinter™ 自動スポッター装置

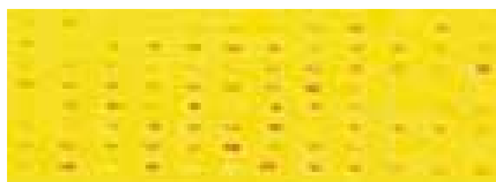


Fig.4
96スポットに固定化した抗体と、抗原の相互作用測定。
赤く着色したスポットに固定化された抗体が強いアフィニティを持っていることを示す。



Fig.3 サンプルをスポットしたMultiSPRinter™チップ

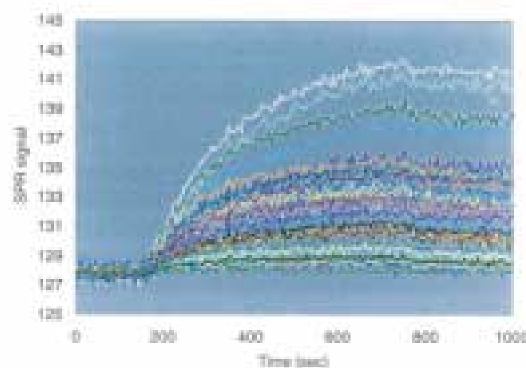


Fig.5 45種類のスポットの抗原抗体反応によるリアルタイム評価の一例

主な仕様

MultiSPRinter™フルシステム（SPRイメージング装置と自動スポッター装置のセット）



〈SPRイメージング装置〉

- ○入射角制御：手動式θ-2θ
- ○検出方法：高感度CCDカメラ
- ○温度制御：30℃～40℃（±0.1℃）ヒーターによる加温
- ○流速：0.01～0.30ml/min
- ○送液方式：シングルプランジャーポンプ
- ○必要サンプル量：200μl
- ○サイズ：W700×D445×H220（mm）
- ○重量：24kg
- ○消費電力：240VA
- ○電源：AC100V、50/60Hz［電源2個］



〈自動スポッター装置〉

- ○スポッティング径：500μm
- ○スポッティング間隔：1mm
- ○スポッティングパターン：18種類
- ○スポット数：96個
- ○適合チップ：W18×D18×H2mm
- ○必要サンプル量：10μl
- ○サイズ：W520×D585×H570（mm）
- ○重量：20kg
- ○消費電力：80VA
- ○電源：AC100V、50/60Hz［電源1個］



参考文献

1) Brockman, J. M., Fruto, A. G. and Corn R. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 8044-8051,1999
2) Nelson, B. P.; Frutos, A. G.; Brockman, J. M.; Corn, R. M.; *Anal. Chem.* **71**(18)3928-3934, 1999
3) Brockman, J. M., Nelson, B. P. and Corn, R. M., *Annu. Rev. Phys. Chem.* **51**, 41-63,2000
4) Nelson, B. P.; Grimsrud, T. E.; Liles, M. R.; Goodman, R. M.; Corn, *R. M. Anal. Chem.***73**(1) 1-7, 2001
5) Smith, E. A.; Kyo, M.; Kumasawa, H.; Nakatani, K.; Saito, I.; Corn, *R. M. J. Am. Chem. Soc.* **124**(24) 6810-6811, 2002

品名及び内容	包装	Code No.	価格
Surface Plasmon Resonance Imaging System **MultiSPRinter™フルシステム** （SPR イメージング装置と自動スポッター装置のセット）	1式	SPR-101	御照会
MultiSPRinter™ SPR イメージング装置	1台	SPR-102	御照会
MultiSPRinter™ 自動スポッター装置	1台	SPR-103	御照会

品名及び内容	包装	保存温度	Code No.	価格
MultiSPRinter™ NH_2 チップ	1個	4℃	SPR-201	御照会
MultiSPRinter™ COOH チップ	1個	4℃	SPR-202	御照会
MultiSPRinter™ 自動スポッター装置用96穴プレート	20回用	室温	SPR-401	御照会

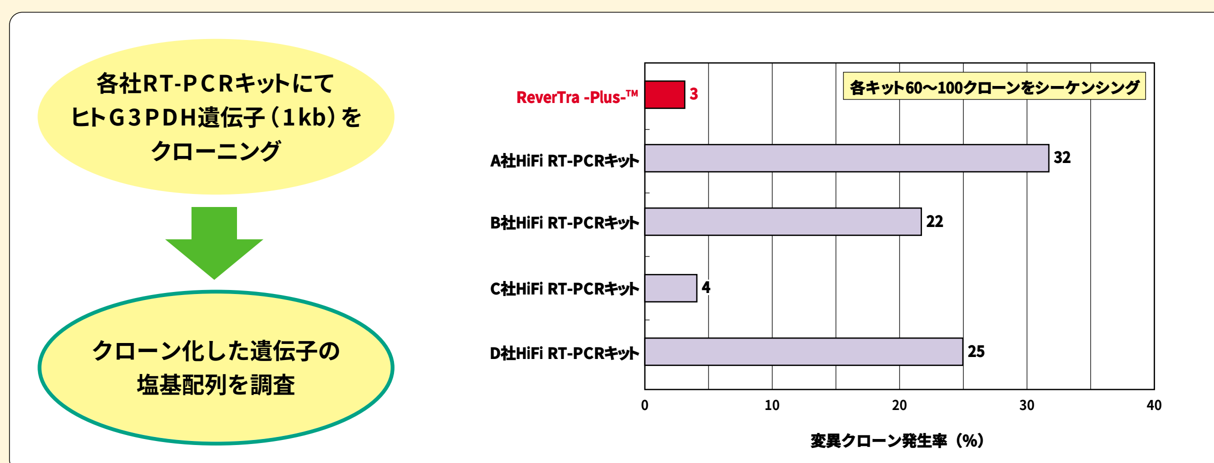
NEW ReverTra -Plus-™

High-Fidelityにこだわり、高い増幅効率を実現した RT-PCRキットです。

現在、遺伝子のクローニングにはPCR法が一般的に利用されています。このPCRにて誤った塩基配列が増幅された場合、目的遺伝子が本来有しているはずの機能を損なう危険性があります。そこで、弊社ではPCR中の誤りが少なく、反応効率の高いPCR酵素"KOD -Plus-"を開発しました。今回、これに、RNAから効率的にcDNAが合成できる逆転写酵素"ReverTra Ace®"を組み合わせ、更に、PCR Bufferを至適化することにより、正確で、増幅効率のよいRT-PCRキットを開発しました。

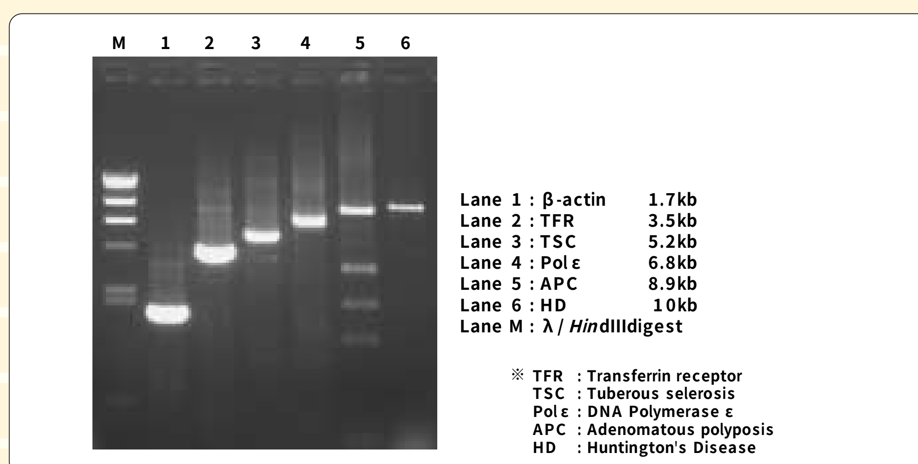


特徴 1 正確性の高い遺伝子増幅を実現



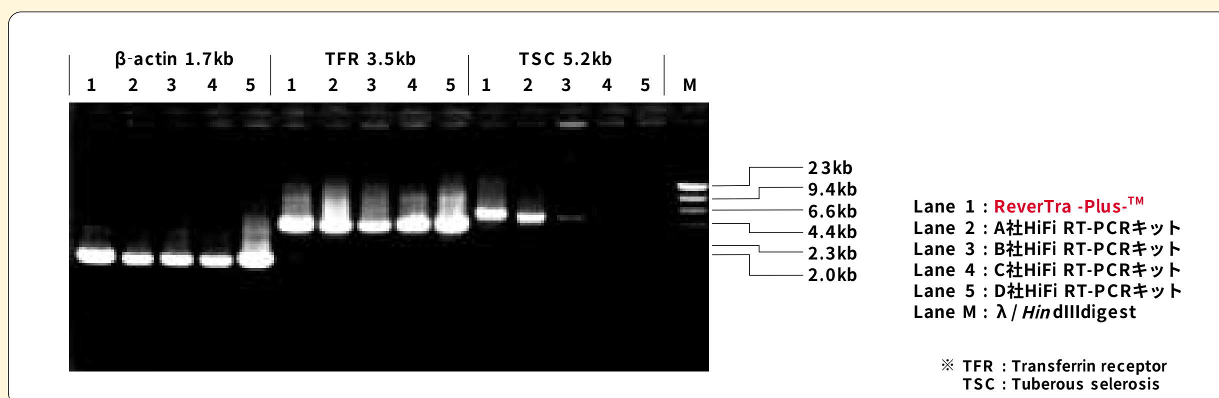
ReverTra -Plus-™がRT-PCRにて変異クローンを発生する確率は3%となり、他社のHiFi（High Fidelity）RT-PCRキットと比べて数倍〜10倍優れていました。
例えば、ヒトの1kbの遺伝子をRT-PCRにてクローニングした場合、ほとんどの他社キットでは、およそ1/3のクローンに変異が導入されることになります。一方、ReverTra -Plus-™を用いれば、僅か3%のクローンしか変異が導入されず、ほとんどのクローンが正確に増幅されていることになります。

特徴 2 幅広いターゲットの増幅を実現



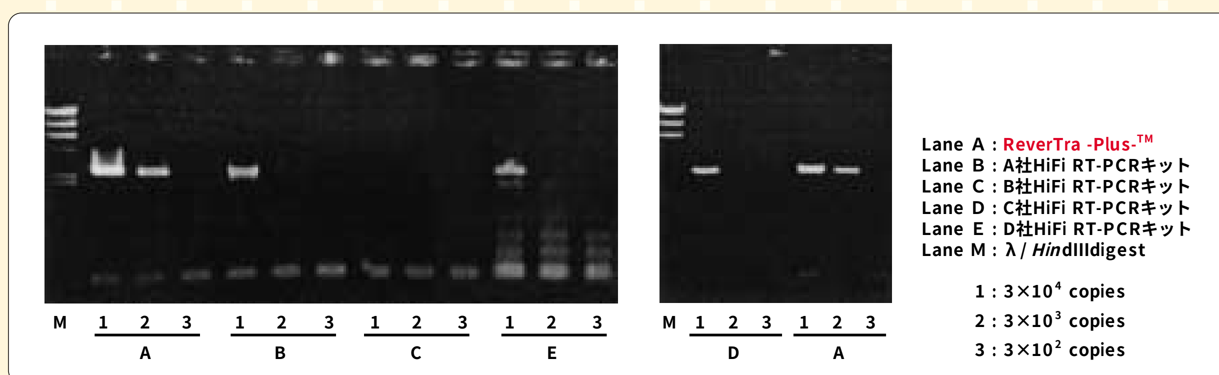
HeLa total RNA 1μgから、ヒト遺伝子をターゲットにしたRT-PCRで10kb以上の増幅が可能になりました。

実施例 1 RT-PCR増幅性能の比較（ターゲット長の比較）



HeLa total RNA1μgから、ヒト遺伝子をターゲットにしたRT-PCRにて各社キットの増幅性能を比較しました。ReverTra -Plus-™の増幅性能は他社キットを圧倒していました。更に、ReverTra -Plus-™を用いた場合、10kb以上のターゲットの増幅も確認できています。

実施例 2 RT-PCR増幅性能の比較（検出感度の比較）



HeLa total RNA（1μg）に既知量の*E.coli*由来ClpB RNAを混合し、RT-PCRにて検出しました。
ReverTra -Plus-™の検出感度は他社のHiFi RT-PCRキットと比べて1オーダー以上優れていました。

参考文献

1. Takagi, M., Nishioka, M., Kakihara, H., Kitabayashi, M., Inoue, H., Kawakami, B., Oka, M., and Imanaka, T., *Appl. Environ. Microbiol.*, **63**, 4504-4510 (1997)
2. Hashimoto, H., Matsumoto, T., Nishioka, M., Yuasa, T., Takeuchi, S., Inoue, T., Fujiwara, S., Takagi, M., Imanaka, T., and Kai, Y., *J. Biochem. Tokyo*, **125**, 983-986 (1999)
3. Mizuguchi, H., Nakatsuji, M., Fujiwara, S., Takagi, M., and Imanaka, T., *J. Biochem. Tokyo*, **126**, 762-768 (1999)
4. Hashimoto, H., Nishioka, M., Fujiwara, S., Takagi, M., Imanaka, T., Inoue, T., Kai. Y., *J. Mol. Biol.*, **306**, 469-477 (2001).

品 名 及 び 内 容	包　装	保存温度	Code No.	価　　格
ReverTra -Plus-™	100回用	-20℃	PCR-501	\70,000

関連商品

品 名 及 び 内 容	包　装	保存温度	Code No.	価　　格
ReverTra Ace®	10,000U×1本	-20℃	TRT-101	¥15,000
	50,000U×1本	-20℃	TRT-102	¥60,000
ReverTra Ace-α-®	100回用	-20℃	FSK-101	¥53,000
KOD -Plus-	200U×1本	-20℃	KOD-201	¥30,000
	200U×5本	-20℃	KOD-202	¥120,000
	200U×11本	-20℃	KOD-203	¥230,000
Oligo(dT)₂₀	1nmole	-20℃	FSK-201	¥8,000
Random Primer(9mer)	2.5nmoles	-20℃	FSK-301	¥8,000

TOYOBO

NEW

Enhancer Reagent for Electrophoretic Separation

Rf Enhancer -ZC- 電気泳動分離用試薬

電気泳動のゲルおよび緩衝液に加えるだけで核酸多型の検出が簡便に行える試薬です。

本試薬は核酸のチミン（T）に可逆的に結合しますので、核酸の電気泳動を行う際に本試薬をゲルおよび緩衝液に加えますと、配列中のTの数・位置により移動度が変化します。この移動度の差を指標として核酸多型の検出などにご利用いただけます。
特に、Heteroduplexによる検出法の高感度化に効果があります。

特徴 1 簡便性

アクリルアミドゲルおよび緩衝液を作製する際に、"Rf Enhancer -ZC-"を添加するだけでよく、特別な泳動装置を必要としません。

特徴 2 高い分離能

"Rf Enhancer -ZC-"の結合による泳動度の変化原因としては
（1）電荷の変化
（2）部分的にバルジ構造ができて移動が遅れる
の2つがあり（図1）、塩基配列により効果が異なるため、複数多型の同時検出などにも適用いただけます。

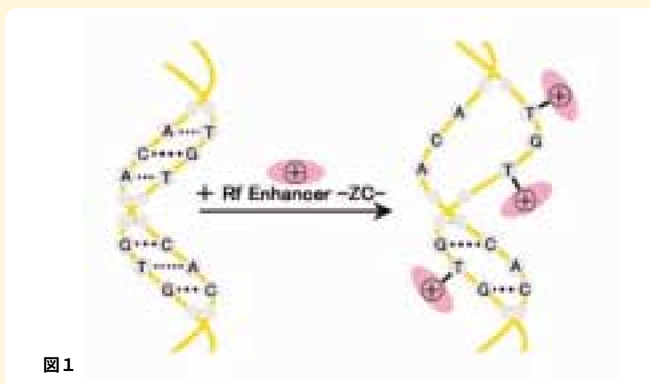


図1

特徴 3 Heteroduplex検出法の高感度化

Heteroduplexによる検出に"Rf Enhancer -ZC-"を用いれば、GC→CGのような検出しにくい1ポイント変異の検出が可能になります。
また、"Rf Enhancer -ZC-"存在下でHeteroduplexを形成させることで、一本鎖DNAによる影響を低減できます。

〈ご使用にあたっての留意点〉

(1) 本試薬を用いた解析はEDTAによる影響を受けるため、ゲル調製用バッファー、泳動用バッファー、色素溶液を全てEDTA抜きで調製いただく必要があります。

(2) 本試薬は電極槽が上下2極式であるスラブ型泳動装置を用いた、アクリルアミドのミニゲル(約10cm四方)での使用を標準としています。使用回数は、陽極用泳動バッファーの1回の使用量を180～190ml程度として設定しています(陰極用泳動バッファーには本試薬を添加しません)。サブマリン型の1槽式泳動装置を用いる場合はバッファー全量が所定濃度となるように本試薬を添加していただく必要があります。また、大型のスラブ型電気泳動装置を用いる場合にも、陽極用バッファー中の本試薬の濃度が所定濃度となるように調製していただく必要があります。このバッファー量を元にしてご使用になれる回数を計算して下さい。

参考文献

Kinoshita-Kikuta E., Kinoshita E., Koike T., *Nucleic Acids Research*, **30**(22):e126(2002)

品名及び内容	包装	保存温度	Code No.	価格
Enhancer Reagent for Electrophoretic Separation Rf Enhancer -ZC- 電気泳動分離用試薬	5回用（10ml*）	4℃	ZCE-101S	￥10,000
	20回用（40ml*）	4℃	ZCE-101	￥35,000

* 100倍濃度の溶液となっております。

検出感度が格段に向上!

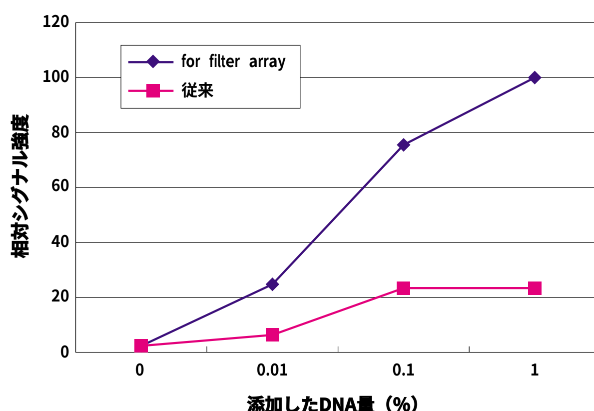
NEW PerfectHyb® Hybridization Solution -filter array-

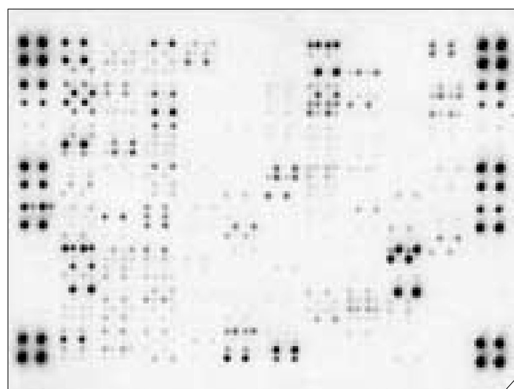
Gene Navigator® cDNA Array Systemで使用するハイブリダイゼーションバッファーです。

特徴 高いシグナル、シャープな画像

これまでのアレイ解析では、S/N比（シグナル/ノイズ比）が良くない画像や、不均一な雲様のバックグラウンドが見られる画像の場合、解析が困難になる場合がありました。このハイブリダイゼーションバッファーを使用することで、従来よりシグナルが高く、シャープな画像が得られるため、常に解析可能なアレイ画像を得ることが容易になりました。

使用例 存在するDNA量比に対するシグナル強度





HeLa細胞で発現が認められない遺伝子をBiotin標識し、*Gene Navigator*® cDNA Array System -human cancer-（Code. No. EPK-212）および*Gene Navigator*® cDNA Amplification System ver.2（Code. No. EPK-111）を用いてBiotin標識したHeLa細胞由来プローブに量を変えて添加して、アレイ上でのシグナルの変化を観察したものです。本品を用いた場合、従来のハイブリダイゼーションバッファーよりも検出感度が向上していることが分かります。

品名及び内容	包装	保存温度	Code No.	価格
PerfectHyb® Hybridization Solution -filter array-	250ml	室温	HYB-201	\35,000

※*Gene Navigator*®cDNA Array Systemには、当面従来のPerfectHyb® Hybridization Solutionと、本品（PerfectHyb® Hybridization Solution -filter array-）が同梱されます。

関連商品

	品名及び内容	包装	保存温度	Code No.	価格
危	*Gene Navigator*® cDNA Array System -human cancer selected-	5回用	4℃,-20℃	EPK-211	¥200,000
危	*Gene Navigator*® cDNA Array System -human cancer-	5回用	4℃,-20℃	EPK-212	¥300,000
危	*Gene Navigator*® cDNA Array System -human immunology-	5回用	4℃,-20℃	EPK-213	¥300,000
危	*Gene Navigator*® cDNA Array System -human neurology-	5回用	4℃,-20℃	EPK-214	¥300,000
危	*Gene Navigator*® cDNA Array System -mouse cancer-	5回用	4℃,-20℃	EPK-312	¥300,000
危	*Gene Navigator*® cDNA Array System -mouse immunology-	5回用	4℃,-20℃	EPK-313	¥300,000
危	*Gene Navigator*® cDNA Array System -mouse neurology-	5回用	4℃,-20℃	EPK-314	¥300,000
危	MagExtractor® -mRNA-	5回用	4℃,-20℃	NPK-801	¥40,000
	Mag*ical Trapper*（磁性ビーズ分離用スタンド）	1個	室温	MGS-101	¥38,000
毒	*Gene Navigator*® cDNA Amplification System -Biotin-*	5回用	-20℃	EPK-101	¥50,000
毒	*Gene Navigator*® cDNA Amplification System -RI-*	5回用	-20℃	EPK-102	¥40,000
毒	*Gene Navigator*® cDNA Amplification System Ver.2*	5回用	-20℃	EPK-111	¥55,000
	Gene Navigator® cDNA Array Filter -human cancer selected-	5枚	4℃	EPK-201	¥150,000

品名及び内容	包装	保存温度	Code No.	価格
Gene Navigator® cDNA Array Filter -human cancer-	5枚	4℃	EPK-202	\250,000
Gene Navigator® cDNA Array Filter -human immunology-	5枚	4℃	EPK-203	\250,000
Gene Navigator® cDNA Array Filter -human neurology-	5枚	4℃	EPK-204	\250,000
Gene Navigator® cDNA Array Filter -mouse cancer-	5枚	4℃	EPK-302	\250,000
Gene Navigator® cDNA Array Filter -mouse immunology-	5枚	4℃	EPK-303	\250,000
Gene Navigator® cDNA Array Filter -mouse neurology-	5枚	4℃	EPK-304	\250,000
PerfectHyb® Hybridization Solution	250ml	4℃	HYB-101	¥29,000
Imaging high -Chemilumi- *Gene Navigator*® ver.	5回用	4℃,-20℃	NRS-205	¥70,000
-Lumino Imaging Analyzer- 微弱発光撮影装置 FAS-1000（標準画素CCDタイプ）	1式	—	FAS-1000	¥2,500,000
-Lumino Imaging Analyzer- 微弱発光撮影装置 FAS-1100（高画素CCDタイプ）	1式	—	FAS-1100	¥3,500,000
Array-Pro® for Windows® 画像解析ソフト	1式	—	FAS-6020	¥748,000

**Gene Navigator*® cDNA Array Systemには含まれておりません。

NEW

Dioxin ELISA Kit
For Gas／For Ash

環境試料中のダイオキシン毒性等量を迅速・簡便に測定するキットです。

現在、環境中のダイオキシン測定は、高価な分析機器である高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS）を用いる「公定法」により行われています。しかしながら、公定法は測定結果が出るまでに数週間かかり、測定費用も高価であることから、ダイオキシン類の発生防止のための燃焼管理に有効な日常の測定や、多検体測定が必要な土壌のダイオキシン汚染のスクリーニングには不向きでした。このため、精度が高く、簡便、低コストである測定方法の開発が望まれていました。
本キットは㈱タクマと東洋紡とが共同して開発したもので、環境中のダイオキシン類を高精度、簡便、低コストで測定することができます。

特徴 1 迅速に多検体を測定

ELISA法を用いたキットで、多検体が一度に測定でき、測定時間は約4時間と短時間で測定ができます。

特徴 2 高い測定感度

検出感度は五塩素化ジベンゾフランで0.15ng/ml以下です。各サンプルの排出規制値レベル（排ガス0.1ng-TEQ/m³N、飛灰：3ng-TEQ/g、土壌：250～1,000pg-TEQ/g）の測定が十分可能です。

特徴 3 公定法との高い相関性

環境試料中のダイオキシン毒性等量(TEQ)に寄与しているダイオキシン類異性体と強く反応するモノクローナル抗体を開発しました。このため機器分析法(公定法)との相関性が高く（排ガスR^2=0.97、飛灰R^2=0.98、土壌R^2=0.99)、各種環境試料の規制値レベルが十分に測定できます。

特徴 4 作業時の安全性

検量線作成用の標準物質にクロロフェノール誘導体（TCP）を用いているため、作業時の安全性が従来法より優れています。

特徴 5 安定した測定結果

タンパク質である抗体は、高濃度の有機溶剤下では変性するため、ダイオキシン類との反応性が低下してしまいます。したがってELISA法では、測定に供する試料を有機溶剤（DMSO）濃度が2～20V/V%程度になるように希釈調整しなければなりませんでした。一方、ダイオキシン類が水に難溶性のため、試料中の有機溶剤濃度を下げるとダイオキシン類を均一に溶解させることができず、この結果、測定値にバラツキが生じます。しかし、本キットでは25～40V/V%の有機溶媒中でもダイオキシン類と高感度に反応するモノクローナル抗体を用いているため、安定した測定結果を得ることができます。

特徴 6 キット保管に冷凍庫が不要

本測定キットは冷蔵庫保管（4～8℃）が可能で、取り扱いや保管のための冷凍庫(-20℃、-80℃)が不要です。



Dioxin ELISA Kit -For Gas-

キットの構成

パ ー ツ	包 装	保存温度
抗原固相プレート	96well×1	4～8℃
TCP濃縮標準溶液	2ml×1	
試料希釈用DMSO	8ml×1	
一次免疫反応用緩衝液	8ml×1	
一次抗体溶液	10ml×1	
二次抗体濃縮溶液	0.15ml×1	
二次抗体希釈液	12ml×1	
発色基質液	12ml×1	
反応停止液（0.5mol/L 硫酸）	12ml×1	
10倍濃縮洗浄液	50ml×1	
プレート密閉用シール	1枚	／
取り扱い説明書	1部	／

測定方法

1．プラスチック製のプレートに抗ダイオキシン抗体と反応する特殊な化合物を結合させ、このプレートに測定したい試料と抗ダイオキシンモノクローナル抗体を添加し反応させます。

⬇

2．試料中にダイオキシンが多いとその量に応じて抗体がダイオキシンと結合するため、プレート上の化合物とは結合しにくくなります。

⬇

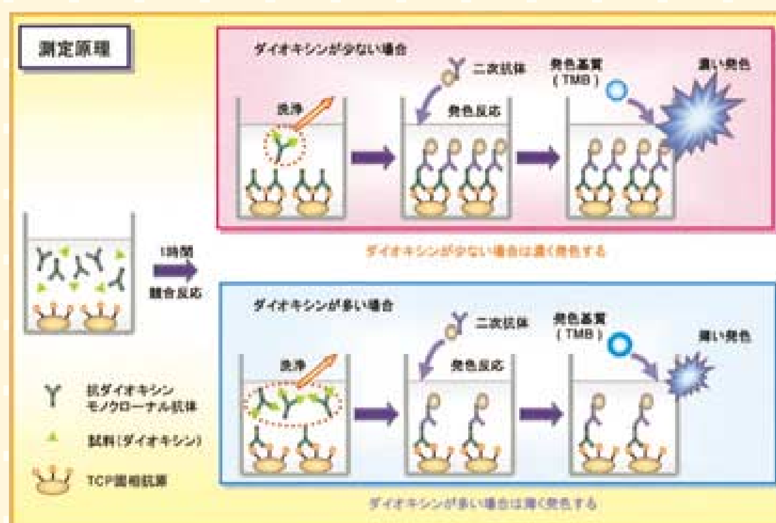
3．したがってプレート上に結合した抗体量が少ない程、試料中のダイオキシン量が多く、逆にプレートに結合した抗体が多い程ダイオキシン量が少ないことになります。

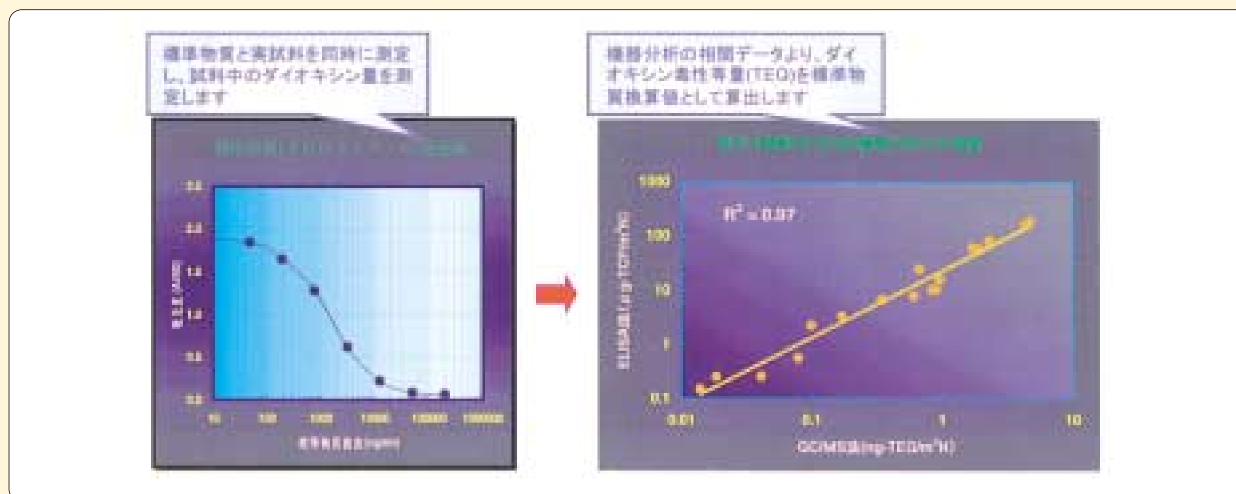
⬇

4．抗体の量は、試薬を反応させて発色の度合いにより定量化することができ、その発色の強弱によってダイオキシン濃度を定量化します。

⬇

5．その際、検量線作成用の標準物質として既知濃度のクロロフェノール誘導体を同時に測定することにより、クロロフェノール誘導体換算値としてダイオキシン毒性を算出します。





品名及び内容	包　装	保存温度	Code No.	価　格
Dioxin ELISA Kit For Gas（排ガス測定用）	1プレート（96穴）	4～8℃	DXN-101	\200,000
Dioxin ELISA Kit For Ash（飛灰・土壌測定用）	1プレート（96穴）	4～8℃	DXN-201	\200,000

関連商品

	品名及び内容	包　装	保存温度	Code No.	価　格
危	Ligand Screening System -Androgen Receptor-	1プレート（96穴）	4℃、-20℃、80℃	ARA-101	\88,000
危	Ligand Screening System -Estrogen Receptor α-	1プレート（96穴）	4℃、-20℃、80℃	ERA-101	\88,000
危	Ligand Screening System -Estrogen Receptor β-	1プレート（96穴）	4℃、-20℃、80℃	ERB-101	\88,000
	ビスフェノールA測定ELISAキット	1プレート（96穴）	4℃	BEK-101	\65,000

PROTEIOS™システムを用いたオオムギ由来タンパク質の合成

岡山大学　資源生物科学研究所　杉本　学

はじめに

様々な生物のゲノム解析やEST解析等による塩基配列の蓄積と分子生物学的手法の開発により、目的とする遺伝子の単離が容易となっています。その結果、生体に微量にしか存在しないタンパク質や未知タンパク質の構造や機能の解明が可能となってきましたが、それには遺伝子発現系を用いたタンパク質の合成が重要であると言えます。

現在、大腸菌発現系を用いたタンパク質の合成が最もよく利用されていますが、タンパク質の合成が行われない場合には宿主菌株－ベクターの組み合わせや培地の種類等の条件検討が必要です。特に、真核生物由来タンパク質を合成する場合はコドン使用頻度や合成タンパク質による宿主菌株の生育阻害の可能性も考慮しなければなりません。

筆者らは塩ストレス抵抗性オオムギで優位に発現している遺伝子を単離し、その機能を解析する目的で大腸菌発現系や酵母発現系を用いたcDNAの発現を試みましたがタンパク質の合成は行われませんでした。今回、真核生物（コムギ）由来の翻訳システムであるPROTEIOS™システムを用いた結果、オオムギ由来遺伝子がコードするタンパク質の合成に成功しましたのでご紹介します。

方　法

塩ストレス抵抗性オオムギで優位に発現している遺伝子のうち[1,2]、502、352、311アミノ酸残基をそれぞれコードするsub11、sub23、sub51遺伝子のオープンリーディングフレームを、*Sac* I サイトを導入した上流プライマーと*Sma* I サイトを導入した下流プライマーを用いてPCR増幅しました。また、sub11遺伝子は*Spe* I サイトを導入した上流プライマーを用いたPCR増幅も行いました。増幅遺伝子を制限酵素処理後、無細胞タンパク質合成用pEU3-N II ベクターのマルチクローニングサイトに挿入し、構築したプラスミド（sub11、sub23、sub51、sub11-2）からThermo T7 RNA polymeraseによりmRNAの合成を行いました。PROTEIOS™システムを用いた無細胞タンパク質合成反応液はキットのプロトコルに従い調製し、重層法によるタンパク質の合成は26℃ 20時間、RI－バッチ法による合成は26℃ 3時間、それぞれPG-Mate™中で行いました。

結果及び考察

pEU3-N II ベクターのマルチクローニングサイト上に遺伝子を挿入した部分の塩基配列を図１に示します。マルチクローニングサイト先頭塩基Gと*Sac* I サイトに挿入したsub11、sub23、sub51遺伝子の開始コドンATGの距離はそれぞれ22、29、26塩基となります。重層法による反応液をSDS-PAGE後CBB染色した結果、sub23とsub51はそれぞれ分子量約38kDaと40kDaのタンパク質の出現が認められました。また、RI－バッチ法による反応液をSDS-PAGE後フルオログラフィー解析した結果、sub23とsub51は重層法で出現したタンパク質に放射活性が認められました。しかし、sub11は重層法とRI－バッチ法でタンパク質の合成が認められませんでした（図2）。

そこで、sub11遺伝子の開始コドンATGをタバコモザイクウイルス由来翻訳増強配列（Ω配列）に近づける目的で、*Spe* I サイトに挿入したプラスミドsub11-2を構築しました（図1）。重層法とRI－バッチ法による反応液を同様に解析した結果、分子量約58kDaのタンパク質の出現が認められました（図3）。この結果は、pEU3-N II ベクターに目的遺伝子を挿入する場合には開始コドンATGをΩ配列近傍に配置することが翻訳の可能性や効率を高めることを示唆しています。また、出現した3種類のタンパク質の分子量はアミノ酸配列から推定される分子量に極めて近い値でした。

以上のように、従来の発現系では不可能であったオオムギ由来タンパク質の合成がPROTEIOS™システムで確認できました。PROTEIOS™システムは無細胞タンパク質合成系であるため合成するタンパク質の宿主に対する毒性や培地条件の検討も不要であり、真核生物由来タンパク質を合成する場合には特に有利な方法であると考えます。

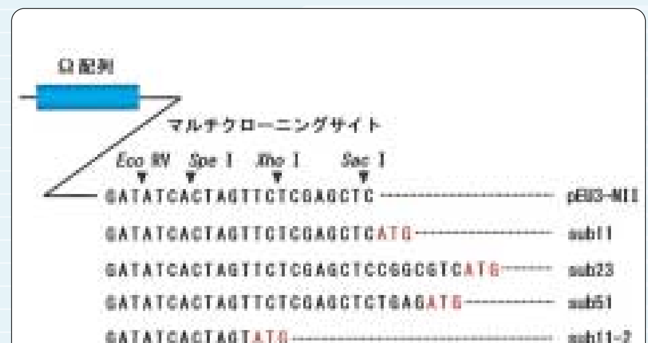


図１：マルチクローニングサイト挿入部の塩基配列

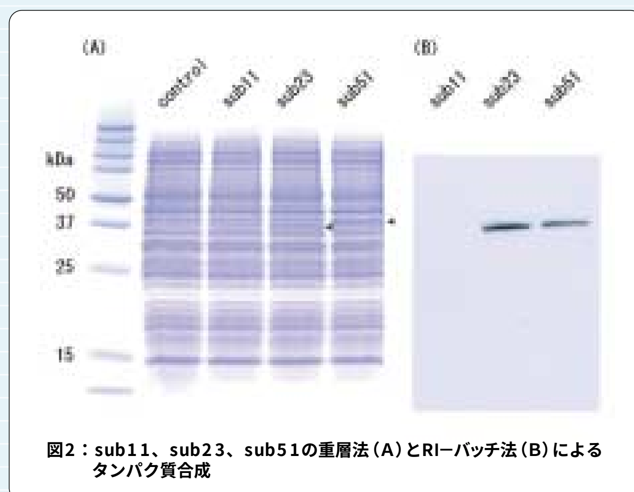


図2：sub11、sub23、sub51の重層法（A）とRI―バッチ法（B）によるタンパク質合成

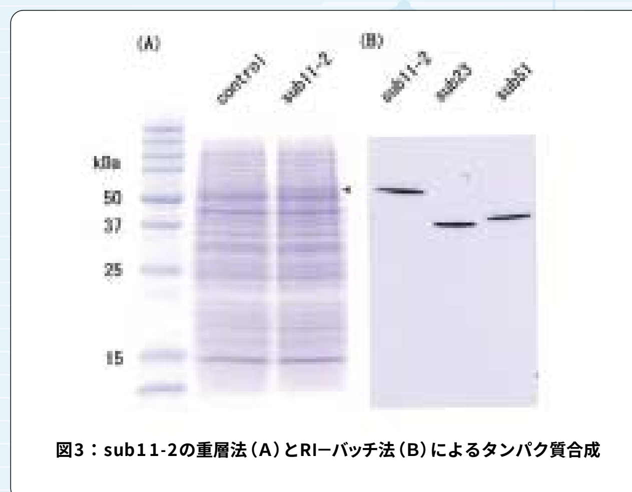


図3：sub11-2の重層法（A）とRI―バッチ法（B）によるタンパク質合成

参考文献

1）杉本　学　他．育種学研究　第4巻（別1）、20（2002）

2）Sugimoto, M., Okada, Y., Sato, K., Ito, K., and Takeda, K., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, in press（2003）

※PROTEIOS™の実施例を含めた情報は、下記サイトにてご覧いただけます。
http://www.toyobo.co.jp/seihin/xr/product/proteios/proteios.html

関連商品

品名及び内容	包　装	保存温度	Code No.	価　　格
PROTEIOS™ set* **				
● Wheat germ cell-free protein synthesis core kit*	(20回用)	-80℃	CPS-601	\140,000
Wheat germ extract	0.22ml			
Creatine kinase（10mg/ml）	0.1ml			
Buffer #1	2.2ml			
Buffer #2	2.5ml			
● Plasmid set**				
pEU-DHFR（0.2μg/μl）	30μl	-20℃		
pEU3-NII（0.2μg/μl）	30μl			
PROTEIOS™ set				
● Wheat germ cell-free protein synthesis core kit*	(60回用)	-80℃	CPS-603	\270,000
Wheat germ extract	0.66ml			
Creatine kinase（10mg/ml）	0.3ml			
Buffer #1	6.6ml			
Buffer #2	7.5ml			
● Plasmid set**				
pEU-DHFR（0.2μg/μl）	30μl	-20℃		
pEU3-NII（0.2μg/μl）	90μl			
PROTEIOS™ set Mini* **				
● Wheat germ cell-free protein synthesis core kit Mini*	(5回用)	-80℃	CPS-601M	\50,000
Wheat germ extract	55μl			
Creatine kinase（10mg/ml）	30μl			
Buffer #1	550μl			
Buffer #2	630μl			
● Plasmid set Mini**				
pEU-DHFR（0.2μg/μl）	30μl	-20℃		
pEU3-NII（0.2μg/μl）	20μl			
RNase inhibitor*	2,500U×1本 2,500U×5本	-20℃	SIN-101 SIN-102	\9,000 \36,000
Thermo* T7 RNA polymerase	7,500U	-20℃	TRL-201	\12,000
rNTP Set（各100mM）［rATP、rCTP、rGTP、rUTP］	各0.5ml	-20℃	NTP-111	\45,000
rNTPs Mixture（各25mM）	0.5ml	-20℃	NTP-211	\18,000
PG-Mate™〈無細胞タンパク質合成装置〉* **	1セット	―	IVT-2001	\480,000

* Wheat germ cell-free protein synthesis core kitにはRNase inhibitor、およびRNA polymeraseは添付されていません。また、mRNAの精製にG-25マイクロスピンカラムが必要となります。別途御準備ください。
**Plasmid setはインビトロテック株式会社からの受託製造・販売品です。
***弊社からの販売は非営利組織に限られます。

SNP Typing Kit Cytochrome P450による CYP 2D6、2C9、2C19のジェノタイプ検出

東洋紡績（株）　バイオ21プロジェクト推進室　曽家　義博

はじめに

ヒトゲノム解読の結果、わずか1塩基が他の塩基に置き換わっている多型が多数見つかりました。これがSNP（Single nucleotide polymorphismの略＝一塩基変異多型）と呼ばれるもので、個人間における最少の遺伝暗号の違いを意味します。

塩基がひとつ違うだけで、ある薬がまったく効かなかったり、逆に副作用として害を与えてしまう例がこれまで知られていましたが、SNPをさらに系統的に調べてデータベースとしてまとめることによって、個人の塩基配列と対応させながら、薬に対して効果はあるのか、副作用が出ないかを予知することが期待できます。

SNPを検出する方法としてはPCR-RFLP法やシーケンス法等が知られていますが、PCR反応に加えて制限酵素処理あるいはシーケンス反応が必要とされていました。

この度、弊社ではPCR反応に特殊な配列を有する Allele Specific Primer（ASP）を用いることによって、配列特異的に鋳型DNAが増幅される方法（ASP-PCR法）によるSNP検出試薬：SNP Typing Kit Cytochrome P450を開発しました。

本試薬は、薬物代謝酵素として知られている CYP2C9、2C19、2D6の遺伝的多型を迅速・簡便に検出するための試薬です。

試薬の具体的な使用方法や実施例について紹介します。

試薬の特徴

試薬には、Primerの3'末端から2番目の塩基が多型部位と相補的でかつ3番目の塩基が人為的にミスマッチとなるPrimerを用いています。また、同一のPCR条件において、各多型部位が増幅されるように試薬組成は調製されています。

CYP *2D6*5*、*2D6 Duplicate*については、極めてFidelityの高いα型ポリメラーゼであるKOD -plus- を用い、さらにStepdown - Shuttle PCRを行うことにより、電気泳動上、単一バンドとして検出することができます。そのため、検出はPCR 反応溶液を電気泳動することで、簡単に実施できる他に、SYBR® Green I 等の2本鎖核酸染色試薬を用いれば、蛍光検出器で迅速に検出することが可能です。

PCR条件

〈*2D6*5 , Duplicate* 以外〉

95℃･5min.
↓
95℃･30sec.
66℃･30sec.　35 cycles
72℃･30sec.
↓
72℃･2min.

〈*2D6*5 , Duplicate*〉

94℃･2min.
↓
98℃･10sec.　5 cycles
X℃･3.5min.
98℃･10sec.　20 cycles
69.5℃･3.5min.
↓
68℃･2min.

X：74.5→72.5→70.5

方　　法

試　　料：PCR-RFLP法により、ジェノタイプが既知であるヒトゲノムDNA（N=37）

試　　薬：SNP Typing Kit Cytochrome P450
*CYP2C9*3, 2C19*2, *3, 2D6*2, *4, *5 , *10, *14, *21, *36, Duplicate*

機　　器：サーマルサイクラー
ABI Gene Amp PCR System 9700
蛍光プレートリーダー
フルオロスキャン（Labsystem社）
リアルタイムPCR装置
i-Cycler (Bio-Rad社)

測定方法：キット添付の取扱説明書に従ってPCRを実施しました。PCR産物の検出には、電気泳動、SYBR® Green I を用いた蛍光検出（励起波長485nm、検出波長538nm）あるいはリアルタイムPCR検出法を用いました。

結果及び考察

本試薬を用いてゲノタイピングを行った結果、PCR-RFLP法のそれとすべて一致しました。これらのPCR産物は電気泳動において単一バンドを示し、標的アリルのみが増幅され、高い特異性が認められました (Fig.1,2)。

PCR産物をSYBR® Green I を用いて蛍光検出した結果、増幅したアリル特異的PCR産物のみ蛍光シグナルが検出されました（Fig.3)。

リアルタイムPCR装置での検出を検討した結果、Ct値（Threshold Cycle）より判定が可能でした（Fig.4)。

本法は、PCR条件が同じであるため、各多型箇所を同時に、しかも汎用の検出器を用いてゲノタイピングできる特徴を有しています。 したがって、これまで多型箇所を検出する方法として実施されてきたPCR-RFLP法、あるいはシーケンス法と比較して迅速かつ簡便な方法として有用性が高いと考えられます。今後、CYPをはじめとして薬物代謝酵素の遺伝的多型の簡便な検出方法としてラインナップを拡充していく予定です。また ㈱東洋紡ジーンアナリシスではSNPの受託解析も承っておりますのでお問い合わせください。

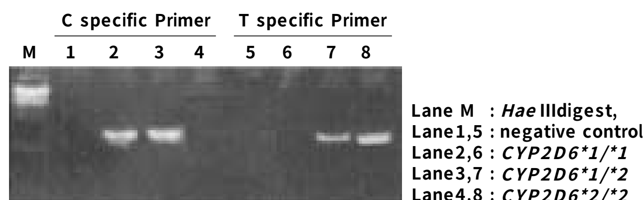


Fig.1 : ASP - PCR for *CYP2D6*2* detected by electrophoresis

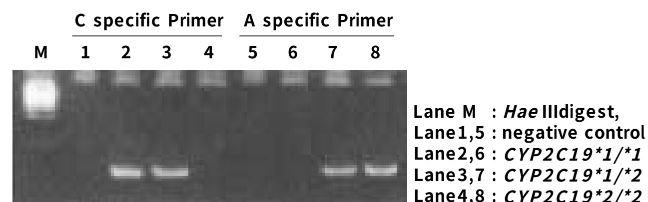


Fig.2 : ASP - PCR for *CYP2C19*2* detected by electrophoresis

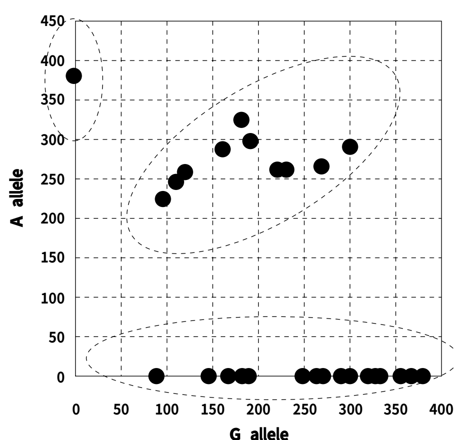


Fig.3 : ASP - PCR for *CYP2C19*3* detected by Fluorescence plate reader with SYBR® Green I

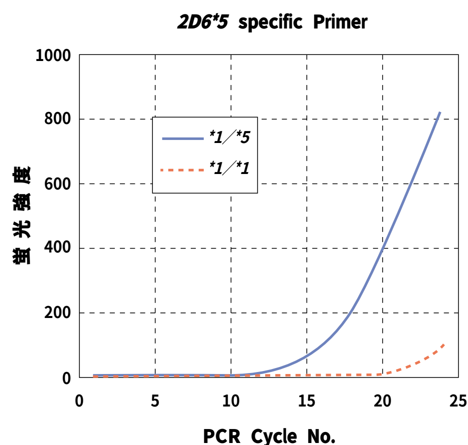


Fig.4 : Stepdown - Shuttle PCR for *CYP2D6*5* detected by real time PCR analyzer

参考文献

1) de Morais S.M.F.,Wilkinson G.R., Blaisdell J.et al. : *Mol. Pharmacol.*, **46** : 594- 598 (1994)
2) de Morais S.M.F.,Wilkinson G.R., Blaisdell J.et al. : *J.Biol. Chem.*, **269** : 15419 - 15422 (1994)
3) Hersberger M., Marti-Jaun J.,Rentsch K. et.al : *Clin. Chem.*, **46** : 1072 - 1077(2000)
4) Yamada Y., Ando F., Niino N et.al : J.Mol.Med., **80** : 452 - 460 (2002)

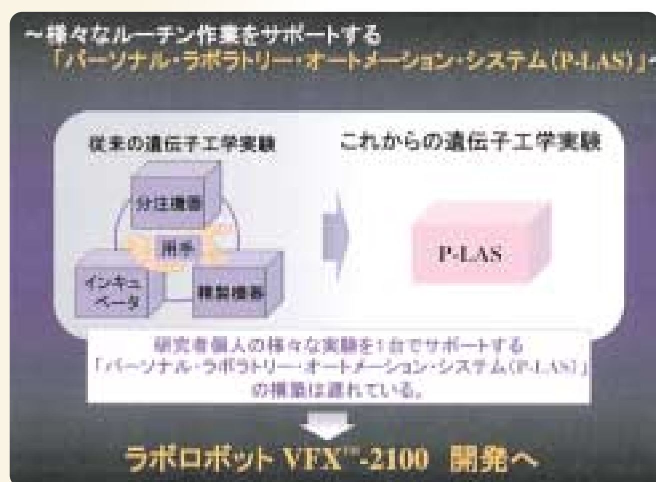
品 名 及 び 内 容	包　装	保存温度	Code No.	価　　格
SNP Typing Kit				
SNP Typing Kit Cytochrome P450 *2C9*3*	200回用	-20℃	STK-101	\40,000
SNP Typing Kit Cytochrome P450 *2C19*2*	200回用	-20℃	STK-111	\40,000
SNP Typing Kit Cytochrome P450 *2C19*3*	200回用	-20℃	STK-112	\40,000
SNP Typing Kit Cytochrome P450 *2D6*2*	200回用	-20℃	STK-121	\40,000
SNP Typing Kit Cytochrome P450 *2D6*4*	200回用	-20℃	STK-122	\40,000
SNP Typing Kit Cytochrome P450 *2D6*5*	200回用	-20℃	STK-123	\40,000
SNP Typing Kit Cytochrome P450 *2D6*10*	200回用	-20℃	STK-124	\40,000
SNP Typing Kit Cytochrome P450 *2D6*14*	200回用	-20℃	STK-125	\40,000
SNP Typing Kit Cytochrome P450 *2D6*21*	200回用	-20℃	STK-126	\40,000
SNP Typing Kit Cytochrome P450 *2D6*36*	200回用	-20℃	STK-127	\40,000
SNP Typing Kit Cytochrome P450 *2D6 Duplicate*	200回用	-20℃	STK-128	\40,000
Positive Control Set				
SNP Typing Kit *2C9*3* Positive Control Set	200回用	-20℃	STK-101P	\20,000
SNP Typing Kit *2C19*2* Positive Control Set	200回用	-20℃	STK-111P	\20,000
SNP Typing Kit *2C19*3* Positive Control Set	200回用	-20℃	STK-112P	\20,000
SNP Typing Kit *2D6*2* Positive Control Set	200回用	-20℃	STK-121P	\20,000
SNP Typing Kit *2D6*4* Positive Control Set	200回用	-20℃	STK-122P	\20,000
SNP Typing Kit *2D6*5* Positive Control Set	200回用	-20℃	STK-123P	\20,000
SNP Typing Kit *2D6*10* Positive Control Set	200回用	-20℃	STK-124P	\20,000
SNP Typing Kit *2D6*14* Positive Control Set	200回用	-20℃	STK-125P	\20,000
SNP Typing Kit *2D6*21* Positive Control Set	200回用	-20℃	STK-126P	\20,000
SNP Typing Kit *2D6*36* Positive Control Set	200回用	-20℃	STK-127P	\20,000
SNP Typing Kit *2D6 Duplicate* Positive Control Set	200回用	-20℃	STK-128P	\20,000

ラボロボット“VFX™-2100”によるリバースジェノミクス自動化を目指して

平成14年12月13日（金） 第25回日本分子生物学会 ランチョンセミナー
於 パシフィコ横浜

東洋紡績（株）敦賀バイオ研究所 竹本 誠

弊社の新製品でありますラボロボット「VFX™-2100」に、現在ご好評いただいております無細胞タンパク質合成キット「PROTEIOS™」および核酸・タンパク質精製キット「MagExtractor®シリーズ」を組み合わせることにより、組換えDNA抽出から目的タンパク質の合成・精製までを自動化した実施例について、標記学会にて発表した内容を抜粋してご紹介いたします。



ラボロボットVFX™-2100は、ハイスループット処理を目指した大型のラボラトリー・オートメーション・システム(LAS)とは異なり、研究者個人の様々な実験(分注・酵素反応・精製・分析など)を1台でサポートするパーソナル-LASとして開発されました。

VFX™-2100には、主にこのような5つの特徴があります。これらの機能を組み合わせて利用することにより、豊富な種類の実験を行うことが可能になります。

VFX-2100の特徴（まとめ）

① マイクロピペット自動交換機能
シングル：20μl・200μl・1000μl、12チャンネル：20μl・200μl
異なる容量の処理を必要とする実験の自動化に対応

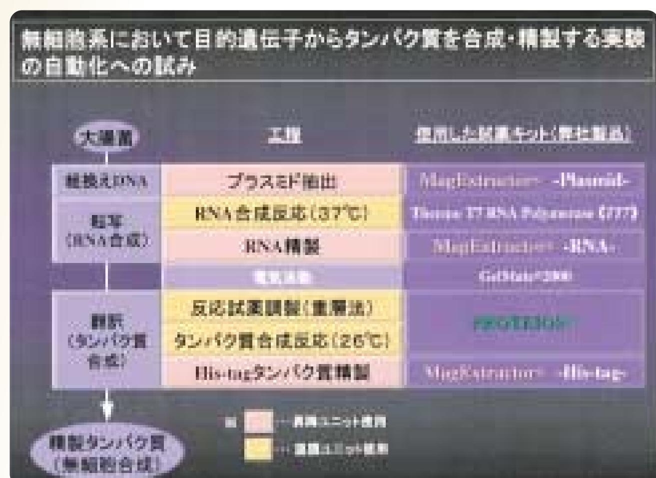
② 自由なステージレイアウト
実験デザインに合せた自由なレイアウト設定が可能

③ 昇降ユニットによる固／液分離
磁性ビーズを利用した固／液分離の自動化が可能

④ サーモモジュールによる温度制御機能
温度・時間設定により酵素反応の自動化に対応

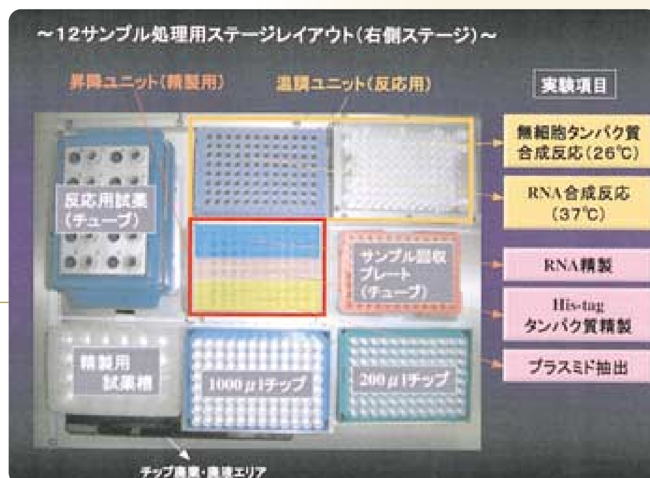
⑤ ピペットアーム360° 回転機構による幅広い拡張性
ステージの増設、他機器との連携に効果発揮

豊富な実験のバリエーションに対応



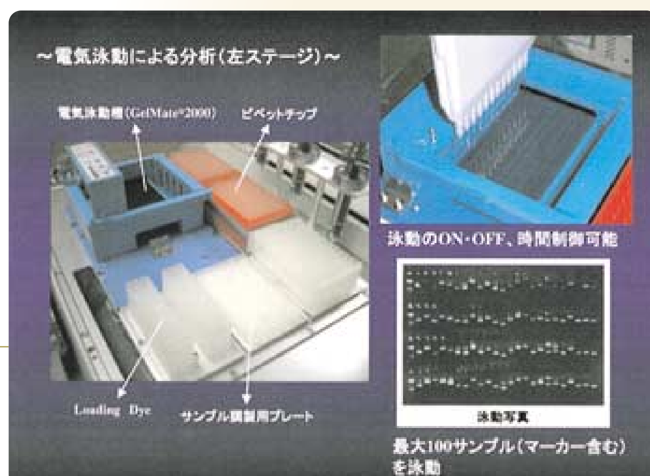
実施例として、目的遺伝子を有する組換えプラスミドDNAを大腸菌から抽出し、それを用いて無細胞タンパク質合成およびHis-tag精製を行うという一連の実験を、VFX™-2100によって自動化する試みを行いました。各工程には、PROTEIOS™、MagExtractor®-His-tag-など弊社の試薬キットを導入しました。

使用したVFX™-2100のタイプは、2ステージワークステーションタイプです。精製用の昇降ユニットおよび反応用の温調ユニットを搭載した右側ステージに試薬・チップ・プレートをセットし、5種類の実験を連続的に行うレイアウトを設定しました（デモンストレーション用として3種類の精製を1つの96穴プレートで行うレイアウトとなっています）。

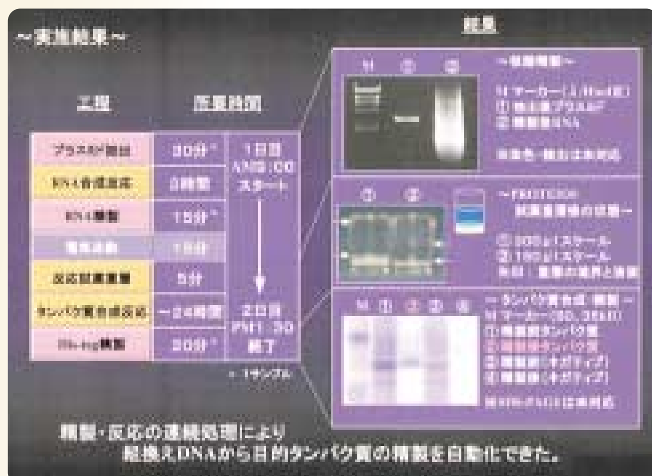


右側ステージにおいてプラスミド抽出→RNA合成→RNA精製→タンパク質合成→His-tag精製を連続的に行いました。この際、プラスミドおよびRNAの溶出(回収)にはそれぞれ、RNA合成用およびタンパク質合成用のバッファー(プレミックス)を用いました。また、合成反応については、温調ユニット上にセットしたプレート内で反応ミクスチャーを調製した後、そのままインキュベーションを行いました。





精製したプラスミドおよびRNAは、電気泳動槽をセットした左側ステージにおいてアガロースゲル電気泳動による分析(サンプルローディング・泳動)を自動化することができます。



一連の実験を実施した結果、プラスミドおよびRNAは純度よく精製されたことが、アガロースゲル電気泳動によって確認されました。また、試薬の重層という厳密な操作も写真のように正確に行われました。さらに、無細胞合成およびHis-tag精製タンパク質はSDS-PAGE（用手）において特異的シグナルとして検出されました。このように、精製および酵素反応を連続的に行うことにより、目的のタンパク質を組換えDNAから無細胞合成・精製する実験の自動化が実現しました。



VFX™-2100は、MagExtractor®シリーズを中心とした弊社の様々な試薬キットとの組み合わせにより、遺伝子工学実験を最適な条件かつ最小限のユーザー設定で自動化できるパーソナル-LASとしてご利用になれます。

ラボラトリーオートメーションシステム Magnia®-Plus-/Vのご紹介

核酸抽出からPCRセットアップまでのフルオートメーションが可能なシステムです。

特徴 1 VFX™-2100とMagnia®-Plus-がドッキング

ラボロボットVFX™-2100に標準装備されているワークエリア拡張機能を応用して、ハイスループット核酸精製システムMagnia®-Plus-とのドッキングが可能になりました。

特徴 2 サンプル精製後の工程までを自動化

磁性ビーズを利用したMagnia®-Plus-は、ローコスト（図1）・ハイスループットシステムとして、ご好評をいただいておりましたが、精製専用システムであるため、先生方のご要望にお応えできない場合がありました。Magnia®-Plus-VではVFX™-2100とのドッキングにより、多くのご要望をいただきました、サンプル精製後の実験（微量分注・各種反応液のセットアップなど）までの自動化を実現しました。

特徴 3 最大8プレートまでをフルオートメーション化

Magnia®-Plus-で96サンプル同時精製を行い、VFX側では精製したサンプルを用いてPCRセットアップをはじめとする微量分注・反応液の調製など最大8プレート（768サンプル）までのフルオートメーションを実現します。

特徴 4 VFXアプリケーションのカスタマイズ

VFX側の自動化アプリケーションはお客様のご要望に合わせてカスタマイズすることが可能です。

Magniaシリーズのランニングコスト

精製プロトコル	精製モード	コスト	試薬	他社価格例	他社価格比
Genome	Normal	¥224	NPK-192		
	LowCost	¥126		¥378	33%以下
Total RNA	Tissue	¥248	NPK-292		
	Normal	¥150			
	Small	¥117		¥490	24%以下
Plasmid	(ALL)	¥92	NPK-392	¥240	38%以下
PCR Cleanup	Normal	¥153	NPK-601	¥281	54%以下

・試薬のほか、精製プレート、チップ、回収プレートを含む定価ベースでのコストです。
・精製に必要なエタノール、滅菌水のコスト、ハードウェアの動力・維持費は含みません。
・他社価格例は試薬のみの価格です。

図1

ローコスト実現！

ドッキング機構 1 連続運転のためのユニット搭載

Magnia®-Plus-の本体右側にVFX™-2100を連結します。Magnia®-Plus-のチップ搬送ユニットにプレートスライダーを装備していますので、精製サンプルを回収した96ウェルマイクロプレートをVFX™-2100からアクセス可能な位置まで移動させることができます。（図2）

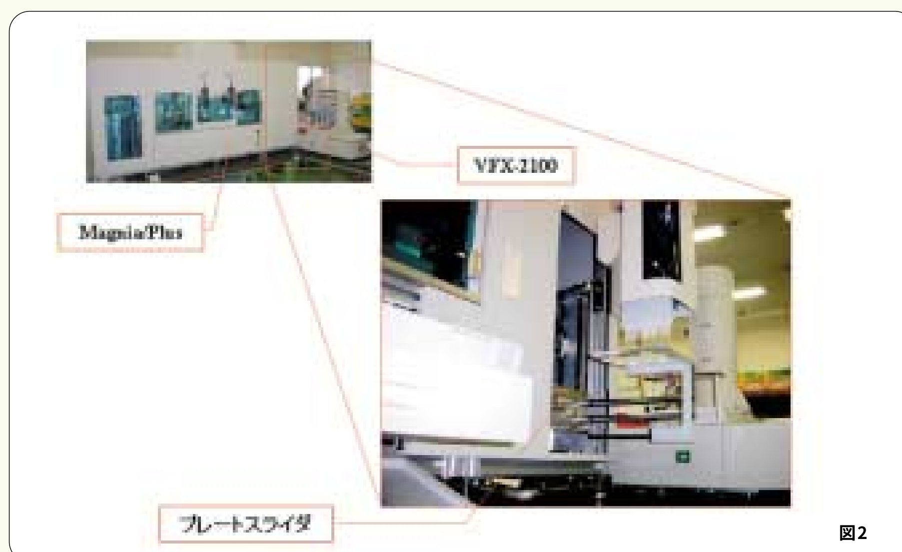


図2

ドッキング機構 2 自由なレイアウト設計

VFX™-2100の稼動範囲は通常モードでは300×400mmの稼動エリアを左右両方のステージ利用することができますが、VFX™-2100は筐体の前後に前後移動の最大ストローク400mmの中で半径460mmの拡張エリアを確保（図3）できますので、プレートスライダをこのエリア内に侵入させることで、VFX™-2100側から自由にアクセスすることができます。シングルピペットの他、12チャンネルピペットを用いてアクセスすることができます。

ドッキング機構 3 ストッカー完備

アクセスを完了したプレートは自動的にMagnia®-Plus-本体内の保冷ボックスに自動的にストックさせることができます。

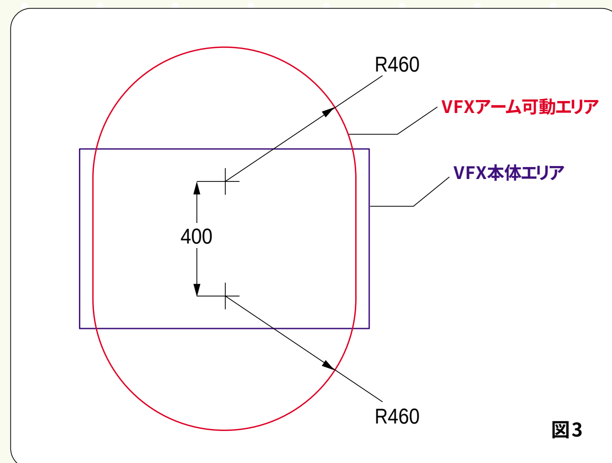


図3

その他の機能 1 バーコード管理

バーコードリーダー搭載。サンプルプレート、回収プレートのバーコードを読取り、精製開始時刻など合わせてデータとして保存可能です。データはMicrosoft® Excelなどで利用可能です。

※Microsoft®はマイクロソフト社の登録商標です。

その他の機能 2 ユニークなTrakMateプレート対応

TrakMateプレート対応。TrakMateは96ウェルフォーマットの独立したチューブ構造になったユニークなプレートです。それぞれのチューブに2Dバーコードラベルを使用することもできます。Magnia®-Plus-VではTrakMateの搬送（図4）、TrakMateからのサンプリング（図5）を可能にしました。

※TrakMateの詳細につきましては下記サイトを御参照下さい。
http://www.toyobo-eng.co.jp/kagaku/product/hts/index.htm

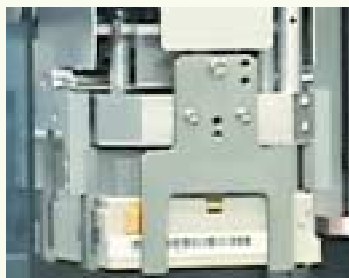

図4


図5

その他の機能 3 Magnia®-Plus-／VFX™-2100の各独立運転も可能

独立運転が可能です。Magnia®-Plus-VはMagnia®-Plus-、VFX™-2100それぞれ独立したPCを使用して制御しています。通常はVFX™-2100側のPCがメインPCとなり、Magnia®-Plus-をコントロールしますが、お客様のサンプル処理量に合わせて、Magnia®-Plus-、VFX™-2100それぞれのPCからコントロールする独立運転も可能です。Magnia®-Plus-で核酸精製を行いながら、VFX™-2100側で完全に独立した別の作業を行うことができます。

ご注意 1 各ロボットがベース

Magnia®-Plus-VはMagnia®-Plus-、VFX™-2100ワークステーションタイプをベースにした商品です。それぞれの詳しい仕様はUPLOAD69・68号などをご覧ください。

ご注意 2 ドッキング可能タイプ

ドッキング可能なVFX™-2100はワークステーションタイプです。アーム回転機構を搭載していないローコストタイプは対応していません。

ご注意 3 設置スペース

Magnia®-Plus-Vの設置スペースは図6のようになります。緑色はシステム全体を載せる台として必要です。水色はプレート搬送システムを設置するための空間で台は不要です（台があると設置できません）。赤色はデッドスペースになります。

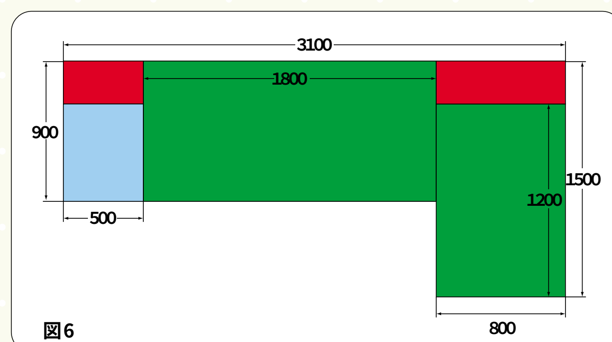


図6

品名及び内容	包装	Code No.	価格
Magnia®-Plus-/V	一式	-	応談



Stratagene社 QuikChange® Q&A

TOYOBOのテクニカルライン（TEL 06-6348-3888）へお問い合わせの多い商品群ごとに、それらをまとめたQ&Aコーナーです。
9回目はご好評いただいております組換え遺伝子への変異導入に最適なStratagene社 QuikChange® Site-directed Mutagenesis Kitについて多くいただくお問い合わせ内容をまとめてお届けいたします。これらをご参考に、より効果的にご利用いただければ幸いです。

Q1 QuikChange®には何種類のキットがあるのか。

A1 従来のQuikChange®に加えて、現在QuikChange®XL、QuikChange® Multiの3種類です。

Q2 3種類のQuikChange®の用途は？

A2 従来のQuikChange®・QuikChange® XLは、部位特異的点変異・挿入・欠失が導入可能で、変異を導入するプラスミドのサイズが8kb以上の場合にはQuikChange® XLを使用いたします。QuikChange® Multiは、8Kb以下のプラスミドに最大5種類のプライマーを使用して5ヶ所の点変異（各プライマー1ヶ所）を導入できます。

Q3 各QuikChange®の変異導入効率はどのくらいか？

A3 QuikChange®・QuikChange® XLにつきましては、1ヶ所の点変異導入の場合80%以上の効率です。QuikChange® Multiにつきましては、1～2ヶ所の点変異導入の場合90%以上、3～4ヶ所の点変異導入の場合 50%以上、5ヶ所の変異導入の場合 30%以上です。

Q4 実際にこの商品を使用した文献はあるか？

A4 以下の文献等が公開されています。

1) QuikChange® Multi
"Creating Randomized Amino Acid Libraries with QuikChange Multi Site-Directed Mutagenesis Kit", Hogrefe, H.H. et.al., 2002. *BioTechniques*, **Vol. 33** No. 5 1158-1165.

2) QuikChange® XL
"Mutational Analysis of Human Hydroxysteroid Sulfotransferase SULT2B1 Isoforms Reveals That Exon 1B of the SULT2B1 Gene Produces Cholesterol Sulfotransferase, whereas Exon 1A Yields Pregnenolone Sulfotransferase", Hirotoshi Fuda, Young C. Lee, Chikara Shimizu, Norman B. Javitt, and Charles A. Strott, 2002. *J. Biol. Chem*, **277**: 36161-36166.

3) QuikChange®
"The Non-ankyrin C Terminus of IB Physically Interacts with p53 in Vivo and Dissociates in Response to Apoptotic Stress, Hypoxia, DNA Damage, and Transforming Growth Factor-1-mediated Growth Suppression", Nan-Shan Chang, 2001. *J. Biol. Chem*, **277**: 10323-10331

※他の文献につきましては、下記のサイトにてご覧いただけます。
http://www.stratagene.com/citations/

Q5 DNA鎖をポリメラーゼで合成する際に、目的の場所以外にランダムな変異は入らないのか？

A5 QuikChange®シリーズは、高い正確性を持つPfuTurbo®（PfuUltra™に変更予定）をDNA合成酵素として用いていることに加え、PCRと異なり元のプラスミドのみを鋳型とするため、目的の場所以外のランダムな変異を最小限に抑えることができます。

Q6 変異を導入できた最も大きなプラスミドのサイズはどのくらいか？

A6 各商品について、以下のような実績がございます。
QuikChange® Multi:8Kbのプラスミド
QuikChange® XL:19Kbのプラスミド（外部データ）
QuikChange®:15Kbのプラスミド（外部データ）。

Q7 導入できた最も大きな欠失変異のサイズはどのくらいか？

A7 各商品について、以下のような実績がございます。
QuikChange® XL:5.6Kbのプラスミドで318bpの欠失（外部データ）
QuikChange®:5.6Kbのプラスミドで84bpの欠失（外部データ）

Q8 導入できた最も大きな挿入変異のサイズはどのくらいか？

A8 各商品について、以下のような実績がございます。
QuikChange® XLおよびQuikChange®
:8Kbのプラスミドで18bpの挿入（外部データ）

Q9 変異を導入するプラスミドの調製について注意する点は何か？

A9 メチル化したDNAを切断する*Dpn* I で元の鋳型を切断するため、JM110等の*dcm*⁻あるいは*dam*⁻の（メチル化が欠損した）宿主で増やしたプラスミドを使用しないでください。

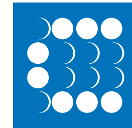
QuikChange®比較表

	QuikChange®	QuikChange® XL	QuikChange® Multi
Features			
5' 端リン酸化プライマー	不要	不要	必要
変異部位毎に必要なプライマー数	2	2	1
使用するプラスミドのサイズ	8kb以下	8kb以上	8kb以下
使用できるプラスミドの制限	なし	なし	なし
付属コンピテントセル	XL1-Blue	XL10-Gold®	XL10-Gold®
実験期間	1～2日	1～2日	1～2日
変異導入率	80%以上	80%以上	80%以上(1-2sites) 50%以上(3-4sites)

	QuikChange®	QuikChange® XL	QuikChange® Multi
Applications			
挿入変異体の作製	可	可	非推奨
欠損変異体の作製	可	可	非推奨
点変異体の作製	可	可	可
Domain swapping	可	可	不可
一度に導入可能な変異部位数	1	1	5まで
Engineered mutant collections	不可	不可	可
Randomize amino acid substitutions at key residues	不可	不可	可

東洋紡と三井物産がバイオ関連合弁会社設立

「株式会社ＴＭセルリサーチ」



TM Cell Research

２００３年2月５日、東洋紡績株式会社（本社：大阪市北区、代表取締役社長：津村準二）と三井物産株式会社（本社：東京都千代田区、代表取締役社長：槍田松瑩）は、バイオ関連の合弁会社「株式会社TMセルリサーチ」を設立いたしました。

■新会社設立の主旨

今日、高度な医療ならびに医療費抑制の時代を迎えていますが、そのためには細胞組織工学（多種類の細胞を生体中にある状態と同様に組織化し、組織・臓器の持つ高次な機能を再現するための工学）を基礎とした組織の再生技術が求められています。また、医薬品開発における実験動物を用いる前臨床試験においてもヒト細胞機能を持つ研究材料はその開発効率の観点から大きなニーズが想定されます。

このような背景の中で「株式会社TMセルリサーチ」は医薬品開発研究と将来の再生医療研究につながる細胞関連の技術開発と製造販売を行います。

具体的には、細胞・幹細胞の培養技術と細胞分化制御技術を確立し、再生医学研究、医薬品開発研究の各分野で利用される細胞関連商品を開発します。

そして将来、これらの事業展開が再生医療をサポートし、対処治療的ではない根本的な治療による医療費削減、治療効果の高い医薬品開発や開発にかかるコスト削減等、社会的にも経済的にも貢献できる技術開発となることを確信しています。

TMセルリサーチは、細胞を主体として、東洋紡と三井物産の基盤技術、情報ネットワーク、販売網を最大限活用しながら、大学等の研究機関とのネットワークを生かしユニークな研究開発ができる体制を持つ会社となることを期待しています。まずは医薬品開発研究への細胞基礎技術の提供、再生医学研究への研究サポート、さらに高付加価値な細胞を用いたアッセイシステムの開発と、順次事業の展開を計画しています。

Stratagene社 BacterioMatch®のライセンスについて

Stratagene社 BacterioMatch®は、下記の通りお客様のご所属によってStratagene社からのライセンスが必要となります。そこで、ご購入前にライセンス内容をStratagene社にて確認させていただくために、お客様のご氏名・ご所属（教室・研究室・講座名まで）・ご住所を弊社フォーマットにご記入いただき、弊社までFAXにてご返信いただいております。
※フォーマット用紙に関しましては、ご利用代理店または弊社バイオ事業部までお尋ねください。
なお、弊社ホームページ上のオンラインカタログからもダウンロードできます。

公的機関における研究用途の使用

- 大学などの公的機関の場合には、ライセンスは必要ございません。弊社フォーマットに必要事項をご記入の上弊社までご返信後、ご購入いただけます。

非公的機関における研究用途の使用

- 企業などの非公的機関の場合には、ライセンス締結後のご購入となります。
- ライセンス締結は、直接下記Stratagene社にお申し込みください。ライセンスフィーとして$10,000が必要になります。ライセンス締結後に、弊社フォーマットに必要事項をご記入の上、弊社までご返信ください。公的機関向けの価格にてご購入頂けます。

【Stratagene社】11011 North Torrey Pines Road La Jolla, CA 92037 USA
TEL:1-858-535-5400 / FAX:1-858-535-0071

※弊社は、Stratagene社とのライセンス締結につきましては関与いたしませんので、あらかじめご了承ください。

《ご注意》

1．研究用途以外はご使用できません。
2．購入者以外（例え同じ研究室であっても）へのベクターを含む本品の構成品の譲渡・再販売はできません。また、本ベクターに挿入遺伝子をいれたものについても同様です。
3．本ベクターの改変（目的遺伝子のマルチクローニングサイトへの挿入は除く）はできません。

下記該当商品は、基本的に受注発注とさせていただいております。また、ライセンス確認などの処理が必要ですので、納期が確定するのに少し時間がかかる場合がございますことを、あらかじめご了承ください。納期が確定次第、ご連絡させていただきます。

■BacterioMatch™ Two-Hybrid System 対象品一覧

Code No.	品　名
SC200180	BacterioMatch® Reporter Strain Competent Cells
SC200412	BacterioMatch® Two-Hybrid System XR cDNA Library Construction Kit
SC240064	pTRG XR Target Vector
SC240065	BacterioMatch® Two-Hybrid System Vector Kit
SC240066	pTRG Target Vector
SC240067	pBT Bait Vector
SC982050	Yeast cDNA, BacterioMatch® *S.cerevisiae* Library
SC982201	Human cDNA, Lung, Male/Female BacterioMatch® Library
SC982202	Human cDNA, Uterus, Female BacterioMatch® Library
SC982205	Human cDNA, Kidney, Male BacterioMatch® Library
SC982207	Human cDNA, Brain, Male/Female BacterioMatch® Library
SC982208	Human cDNA, HeLa Cells, BacterioMatch® Library
SC982212	Human, cDNA, T-Cell(PMA stimulated) BacterioMatch® cDNA Library
SC982213	Human cDNA, Pancreas, Female BacterioMatch® Library
SC982214	Human cDNA, Cervix, Female BacterioMatch® Library

Code No.	品　名
SC982215	Human cDNA, Breast, Female BacterioMatch® Library
SC982250	Human cDNA, Fetal Brain, Male BacterioMatch® Library
SC982303	Mouse cDNA, Heart, BALB/c Male BacterioMatch® Library
SC982304	Mouse cDNA, Kidney, BALB/c Male BacterioMatch® Library
SC982305	Mouse cDNA, Lung, BALB/c Male BacterioMatch® Library
SC982306	Mouse cDNA, Spleen, BALB/c Male BacterioMatch® Library
SC982307	Mouse cDNA, Liver, BALB/c Male BacterioMatch® Library
SC982308	Mouse cDNA, Testis, BALB/c Male BacterioMatch® Library
SC982501	Rat cDNA, Heart, Sprague-Dawley Male BacterioMatch® Library
SC982502	Rat cDNA, Liver, Sprague-Dawley Male BacterioMatch® Library
SC982504	Rat cDNA, Brain, Sprague-Dawley Male BacterioMatch® Library
SC982505	Rat cDNA, Skeletal Muscle, Sprague-Dawley Male BacterioMatch® Library
SC982506	Rat cDNA, Smooth Muscle, Sprague-Dawley Male BacterioMatch® Library
SC982600	*Drosophila* cDNA, Embryo BacterioMatch® Library
SC982650	*Xenopus* cDNA, Embryo BacterioMatch® Library

NASBA® Amplification Kit終売のお知らせ

標記商品について、製造元ORGANON TEKNIKAが本品を販売中止としたことに伴い、弊社でも販売中止とさせていただくことになりました。
長らくご愛顧頂き、誠にありがとうございました。

該当商品

品名及び内容	包装	Code No.	価格	販売中止日
NASBA® Amplification Kit	100回用	AN2000-1	\115,000	2003.1.31
Positive Amplification RNA Control	50回用	AN2001-1	\25,000	2003.1.31

アレイ解析受託の値下げのお知らせ

ご好評の「*Gene Navigator*® cDNA Array System」シリーズを使用した解析受託サービスの価格が値下げとなり、さらにご利用しやすくなりました。
2枚一組での解析以外に追加のサンプルにつきましてもご利用しやすい価格となりました。
アレイの種類を問わず、組み合わせ（cancer + immunologyなど）の場合でも適用されます。

※例：2サンプルのTotal RNAからcancer、immunology 2種解析する場合
→\490,000＋\100,000×2＝\690,000（旧価格：\1,000,000）31% Down!

受託解析	旧価格1枚当たり	新価格	
		コントロール+サンプル1種の計2枚	追加1枚毎
検出画像からの解析	\40,000	\75,000	\35,000
ハイブリ済みメンブレンからの検出・解析	\80,000	\150,000	\60,000
mRNAからの検出・解析	\230,000	\420,000	\95,000
Total RNAからの検出・解析	\250,000	\490,000	\100,000
細胞/組織からの検出・解析	\270,000	\520,000	\100,000